Asas para o vôo, linfócitos para a defesa.
A exaptação da imunidade específica.

Gustavo C. Ramos[1], Nelson M. Vaz[2] and Kay Saalfeld[3]

[1] Departamento de Farmacologia, UFSC, Florianópolis;

[2] Departamento de Bioquímica e Imunologia, UFMG, Belo Horizonte

[3] Departamento de Ecologia, UFSC, Florianópolis;

Resumo

A evolução do sistema imune dos vertebrados mandibulados com sua vasta coleção de receptores linfocitários expressos de forma clonal é usualmente vista como um processo otimizado para a defesa do organismo. Há uma clara associação entre o neo-Darwinismo, a visão dominante na Biologia atual e a descrição usual da atividade imunológica, conhecida como imunidade adaptativa. Neste texto, pelo emprego dos conceitos de tímpanos (spandrels) e exaptação, criado por Gould e colaboradores, revemos dados da imunologia comparada e afirmamos que o sistema imune não se formou como um sistema otimizado para a defesa do organismo, mas sim pode ser visto como um tímpano (spandrel), uma conseqüência de processos que originalmente não estavam relacionados a interações do organismo com materiais estranhos. Além disso, sugerimos que toda uma nova abordagem à origem dos sistemas vivos, denominada por Maturana e Mpodozis como a deriva filogênica natural, pode substituir a explicação neo-Darwinista usual para a origem da atividade imunológica.

Palavras chave: evolução, imunologia, adaptação, exaptação, spandrel, deriva natural

Abstract

The evolution of immune system of jawed vertebrates with its vast array of clonally expressed lymphocyte receptors is usually viewed as optimized for the defense of the organism. There is a clear association between neo-Darwinism, the dominant view in current Biology, and the usual description of immunological activity as adaptive immunity. Herein, using the concepts of spandrels and exaptation created by Gould and co-workers, we review data from comparative immunology and claim that the immune system was not formed as a system optimized for the defense of the organism, but rather may be viewed as a spandrel, a consequence of processes not originally linked to interactions with foreign materials. In addition, we suggest that a whole new approach to the origin of living systems, named by Maturana and Mpodozis as the natural phylogenic drift, may replace the usual neo-Darwinian explanation of the origin of immunological activity.

Key words: evolution, immunology, adaptations, exaptation, spandrel, natural drift

Introdução

No século XX, uma maneira de ver apoiada no neo-Darwinismo se tornou tão forte que, para muitos cientistas, foi admitida como um fato e uma condição *a priori* para o pensamento biológico. Essa maneira de ver, baseada em adaptações e funções, chamada por Gould de "o programa adaptacionista". guiou a condução da pesquisa e do ensino médico e biológico e orientou o desenvolvimento de vastas áreas de conhecimento. A Imunologia moderna é um bom exemplo dessa influência.

Na segunda metade do século XX, a Imunologia passou a ser baseada e corroborada por conceitos neo-Darwinistas e também a corroborá-los. Nessa imunologia neo-Darwinista (Burnetiana), um "sistema imune: cuja função é a defesa do organismo, é visto como um conjunto desconectado de linfócitos que não podem reagir entre si nem com componentes do organismo, e cuja função principal é a defesa do corpo. Essa abordagem foi muito importante na compreensão de muitos fenômenos imunológicos, mas muitos outros aspectos, tais como a autoimunidade, permanecem não resolvidos.

Neste texto, propomos que, devido à forte associação entre as teorias imunológicas e o neo-Darwinismo, alterações importantes no pensamento imunológico requerem o desenraizamento de seus fundações neo-Darwinistas. Nesse sentido, aplicamos à Imunologia conceitos e metáforas propostas por Gould e co-autores, que contradizem o "programa adaptacionista" (Gould and Lewontin, 1979; Gould and Vrba, 1982). Em substituição, propomos basear a Imunologia em outro princípio evolutivo, desenvolvido por Maturana e Mpodozis (1992; 2000), denominado Deriva Filogênica Natural. A principal aplicação desta reconstrução é a adoção de programas de investigação baseados na estrutura e organização dos sistemas vivos, em lugar de suas funções ou de sua capacidade para competir.

O programa adaptacionista

O "programa adaptacionista" admite que, em suas mudanças, o organismo segue as mudanças do meio e confere uma certa "onipotência" da <u>seleção</u> <u>natural</u> e a coloca como causa direta de praticamente todas as formas, funções e comportamentos orgânicos. O organismo passa a ser compreendido e estudado como um conjunto de estruturas individualizadas (características), cada uma delas <u>otimizadas</u> pela seleção natural <u>para</u> desempenharem uma <u>função</u> específica (Gould and Lewontin, 1979). Essa visão teleológica passou a preocupar-se em compreender a <u>função</u> das características biológicas, ou seja,

tornou-se funcionalista. Nesta maneira de ver, a estrutura, e a organização dos sistemas tornaram-se questões secundárias.

Em um questionamento desse programa adaptacionista, Gould e co-autores introduziram dois novos conceitos - tímpanos (spandrels) e exaptação - para indicar "características que são úteis em conseqüência de sua estrutura e organização interna, não por um processo otimizador de seleção natural" (Gould e Lewontin, 1979; Gould e Vrba, 1982). Um exemplo nítido de exaptação é a relação entre penas, asas e o vôo. Estas estruturas sempre foram apontadas como adaptadas para o vôo das aves e, de fato, não há dúvidas de que elas permitem o vôo. Mas uma vez que as penas já estavam presentes em pequenos dinossauros terópodos, possivelmente úteis no isolamento térmico, estas estruturas não podem mais ser consideradas como adaptações para o vôo (Flank, 1998). A relação entre asas e o vôo em insetos parece também ter sido exaptada de insetos que se deslocam sobre superfícies líquidas (Marden, et al., 2000). A importância deste conceito de exaptação está em mostrar que o programa adaptacionista pode explicar alguns padrões evolutivos, mas não é nem suficiente, nem necessário para a compreensão do processo evolutivo (O'Grady, 1984).

Ao serem gerados em um processo aleatório (de recombinação gênica e mutações somáticas) e, quer ativados por antígenos externos ao corpo (imunidade), ou inibidos (suprimidos, regulados) pelo contato com componentes do corpo (tolerância), os linfócitos a compor o "sistema imune" não podem lhe dar forma (organização) e se tornam um ponto passivo de encontro de forças externas. Essa é exatamente a maneira de ver o organismo no neo-Darwinismo. por exemplo, El Hani and Emmeche (2000) dizem:

> " As mudanças nascem de um processo externo de categorização (seleção natural) e, de acordo com esse ponto de vista, não é necessário admitir agências causais internas ao organismo. A seleção se torna meramente uma força externa. A mutação é a força interna que gera as variações, mas essa força é aleatória e, portanto, sem conexões com as necessidades do organismo e suas funções. O organismo se torna um ponto passivo de encontro de forças que lhe são alheias. A ironia disso está em que o organismo se torna irrelevante para a biologia evolutiva, simplesmente um meio no qual uma força seletiva externa encontra a produção interna de variações. Isso por ter como conseqüência a reificação do organismo vivo como uma coisa meramente passiva."

A Teoria Sintética da Evolução (o neo-Darwinismo) é hoje considerada pela maioria dos cientistas já como um fato e como a única maneira de se pensar em evolução. Entretanto, esta teoria apresenta sérios problemas, em parte porque, em sua origem, deixou de fora a Biologia do Desenvolvimento e a Ecologia e se desenvolveu apoiada quase exclusivamente na Genética. As principais premissas que apoiam esta teoria foram seriamente questionados por diferentes autores sob variadas abordagens. Brevemente:

1) A relação entre fenótipo e genótipo não é estreita nem direta. Em sua Teoria Neutralista (Kimura and Ohta, 1974; Kimura, 1979;), Kimura demonstra que a relação entre fenótipo e genótipo é muito menos estreita que pensavam os neo-darwinistas, ao demonstrar que a evolução molecular deve ser vista como algo diferente da evolução da forma. Por exemplo, as taxas de mutações de diferentes espécies são constantes e similares de acordo com a molécula considerada e com o tempo examinado. Espécies consideradas como fósseis vivos (e.g. tubarões) e que portanto, teriam menos mutações (já que pouco mudaram ao longo do tempo), apresentam taxas de mutação muito semelhantes para determinados loci quando comparados com qualquer outra espécie (Kimura 1979). Gould e Lewontin (1979) também contribuíram para este desacoplamento entre genótipo e fenótipo, ou entre seleção e adaptação e trazem exemplos tanto de casos de seleção sem adaptação, quanto casos de características aptas sem seleção.

2) A evolução geralmente não é lenta nem gradual. Gould e Eldredge (1993) com sua teoria do Equilíbrio Pontuado, também apontam que a evolução não é lenta e gradual. Sua teoria, baseada no registro fóssil, mostra longos períodos de estase (poucas mudanças morfológicas, apesar de as taxas de mutações continuarem ocorrendo de maneira constante). Estes períodos com pouca variação seriam interrompidos por rápidos períodos de grande mudança evolutiva (pontuais em um período de tempo geológico). Isto é apoiado pelo registro fóssil, que não apresenta praticamente nenhuma forma intermediária entre espécies (revisado em Gould e Eldredge, 1993). Se a evolução fosse um processo contínuo, lento e gradual de transformações, seria esperado que o registro fóssil fosse rico em formas intermediárias.

3) A informação biológica não está especificada nos genes, nem em nenhum outro componente do sistema. O neo-darwinismo admite um reducionismo genético, em que toda a informação biológica está especificada nos genes. Sendo assim, estudar evolução neste paradigma resume-se em compreender como flutuam as freqüências genotípicas de uma população ao longo do tempo. Este reducionismo genético já foi lucidamente discutido por diversos autores, em especial por Fox Keller em seu livro " O Século do Gene" (Keller, 2000). Um exemplo bem conhecido que desmonta este determinismo genético trata de um experimento com dentes e aves. Sabe-se que aves não possuem dentes. A visão usual espera que se elas não possuem dentes, é porque isto está determinado geneticamente; ou seja, não têm genes que fazem dentes, logo, não os fariam em situação nenhuma. No entanto em alguns experimentos demonstrou-se que encubando-se epitélio da coróide embrionária de um pinto com polpa dentária de um mamífero, essa coróide de pinto se desenvolve em um dente. Ou seja, o dente surge não de um determinismo genético, mas de uma condição desenvolvimental (discutido por Gould, 1996);

4) **A ordem gratuita**. Kauffman, em alguns estudos com redes booleanas demonstrou uma série de fenômenos impressionantes sobre a geração de ordem a partir de sistemas desordenados. Resumidamente, em um modelo matemático, com pontos dispersos e conectados aleatoriamente foi observado que ao atingir um valor crítico de relação entre pontos e conexões (entradas e saídas), o sistema passa a se comportar como uma unidade totalmente interconectada e pôde-se atingir e manter uma ordem (Kauffman em Murphy & O´neill, 1995). O interessante é que isto foi obtido sem nenhuma força direcionadora ou sem nenhuma fonte de informação para o sistema. O que faz surgir a idéia de ordem gratuita, no sentido que o sistema surge e é mantido simplesmente a partir de suas relações internos.

Gould: os tímpanos (spandrels) da Catedral de São Marco e a exaptação

Em um texto hoje tornado um clássico Gould e Lewontin (1979)usaram um exemplo da arquitetura para defender a preponderância de características estruturais sobre interpretações funcionais, que pode ser útil em discussões biológicas. Tomaram como exemplo de suas idéias os tímpanos (spandrels) da Catedral de São Marco, em Veneza. O vão central desta catedral apresenta desenhos em mosaicos sobre estruturas em forma de triângulo

invertido, desenhos tão elaborados e harmoniosos que nos leva a observá-los como a causa central da arquitetura à sua volta. Entretanto isto inverte a compreensão apropriada dos fatos. Construir grandes espaços triangulares para a elaboração dos mosaicos não foi a intenção primária durante a construção desta Basílica. Este fato surgiu a partir de uma outra decisão arquitetônica: montar uma cúpula sobre quatro entradas com bordas em forma de arco. Uma vez feita tal escolha, surgem conseqüências arquitetônicas inevitáveis: as quatro estruturas em forma de triângulo invertido. Sobre tais estruturas, que surgiram *a posteriori*, é que os mosaicos foram elaborados. Na arquitetura e nas artes estas estruturas são denominadas spandrels e são definidas como um espaço triangular deixado quando uma figura curva e uma fronteira retangular se intersectam. Ou seja, uma estrutura que surge como conseqüência de estruturas arquitetônicas anteriores, e não como intenção primária. Gould e Lewontin (1979) sugerem que os tímpanos (spandrels) podem ser usados como metáforas de estruturas biológicas, algo que "projeta as propriedades físicas – forma, posição, constituição e número - que devem surgir como conseqüências inevitáveis de razões primárias ou alterações em estruturas complexas".

Alguns anos mais tarde, Gould e Vrba (1982) a propuseram um novo conceito em biologia evolutiva - exaptação - vinculada ao exemplo dos tímpanos (spandrels) que promove uma reavaliação do termo "adaptação". Argumentaram que o termo "adaptação" tem uma conotação claramente teleológica : ad + aptus - na direção de uma competência. Na perspectiva neo-Darwinista, a teleologia se explica pelas pressões seletivas que guia a evolução no sentido dos organismos mais aptos. Entretanto, ver cada característica útil como "adaptada" reforça o programa adaptacionista e dificulta a consideração de outras possibilidades. Assim, Gould and Vrba (1982) separam "adaptação" - aquelas características criadas pela seleção para uma deda função - da exaptação - aquelas características não criadas pela seleção, mas que são úteis por seus efeitos. A principal implicação do termo exaptação é que, se a utilidade de uma característica é uma mero efeito (conseqüência), então não é adequado indagar por sua função.

Maturana and Mpodozis (1992; 2000) seguem uma abordagem muito diferente da de Gould, mas são cuidadosos em não confundir os resultados (os efeitos, as conseqüências) que derivam da operação de um mecanismo, com o próprio mecanismo que os gerou. Gould e Vrba fazem uma distinção similar ao separar adaptações de exaptações como duas visões diferentes de mundo. Essa proposta foi inserida no contexto da morfologia evolutiva porque

eles eram ambos paleontologistas, mas o conceito é útil para todas as áreas de discussão biológica, incluindo a Imunologia, que é o tema de nosso texto.

De acordo com Gould (1997), a diferença entre uma característica adaptativa e uma exaptativa pode ser feita de duas maneiras. A primeira é conhecer a ordem histórica de emergência de uma certa característica e então observar se sua função atual surgiu junto com essa origem história, ou *a posteriori*. Uma utilidade *a posteriori* assinala uma exaptação. Uma maneira mais fácil, porém, inferencial, é baseada no registro fóssil, em um contexto filogênico.

Imunologia comparada

Na Imunologia comparada, considera-se como pontos críticos da evolução do sistema imunológico o surgimento do complexo principal de histocompatibilidade (MHC), dos receptores de células T (TCRs), das imunoglobulinas (Ig), e ainda do processo de diversificação destes receptores (Khalturin, et al., 2004). Tanto os receptores de linfócitos B (as imunoglobulinas) quanto os receptores de células T (TCR) passam por um processo somático característico de rearranjo genético, responsável pela geração da diversidade de receptores. Este processo de rearranjo inclui a união de dois ou três distintos elementos gênicos, que transcrevem as regiões: variável (V), junção (J) e diversidade (D). Neste processo podem ocorrer variações no ponto exato de secção dos elementos gênicos, gerando parte da variabilidade. Este processo é ainda associado com a adição de nucleotídeos extras nas junções dos elementos gênicos, produzindo o que é chamado de região N. Estes processos de rearranjo genéticos e mutações pontuais apresentam um potencial combinatório para produzir uma imensa diversidade de receptores (Bartl, et al., 2002).

Durante o processo de rearranjo dos elementos gênicos, duas recombinases denominadas: gene ativador de recombinação RAG (RAG1 e RAG2) desempenham um papel crucial. Estas duas enzimas são encontradas apenas nos vertebrados mandibulados, e seu surgimento coincide com o do sistema imunológico (ou imunidade adaptativa). Durante muito tempo tentou-se sem sucesso estabelecer a relação filogenética destas recombinases com outras moléculas presentes em linhagens de animais ancestrais. Isto possibilitaria a inferência de um processo evolutivo lento, gradual e direcionado (adaptativo) para esta função de recombinação. Todavia, parece estabelecido que a evolução destes genes não ocorreu desta forma, mas sim por um processo de transmissão horizontal – diretamente do

genoma de um microorganismo para o genoma de um vertebrado mandibulado ancestral (Schatz, 2004). Os principais indícios que corroboram esta hipótese são:

(1) jamais foram encontradas moléculas com boa homologia para RAG1 e RAG2 em nenhum outro organismo multicelular além dos vertebrados mandibulados;

(2) foi estabelecida alta homologia entre RAG1 e RAG2 com integrases e com "fatores de integração ao hospedeiro", respectivamente, de microorganismos;

(3) o segmento espaçador entre os genes RAG1 e RAG2 apresenta pedaços de retrosposons; e

(4) construções de RAG1 e RAG2 demonstraram atividade de transposon na transfecção de células de mamíferos (Marchalonis, et al., 2002).

Estes dados indicam fortemente um caráter exaptativo na evolução do processo de diversificação dos principais receptores do sistema imunológico. Estes genes inicialmente não foram adaptados para otimizar um possível mecanismo de defesa do hospedeiro. Eles tiveram origem e evoluíram em um contexto diferente: em um vírus ou um microorganismo, participando de processos não imunológicos, como a integração do DNA viral ao DNA de outra célula (que é uma forma de junção de elementos gênicos). Em um momento pontual e fortuito este gene foi integrado ao genoma de um vertebrado mandibulado, e se tornou parte da evolução de seu genoma. É importante ficar claro a falta de qualquer processo direcionado por pressões seletivas para a geração de um repertório diversificado visando a defesa. A transferência horizontal de genes, uma forma não-direcionada de evolução, é uma fenômeno mais geral, o que levou Brosius (1999) a afirmar: "Os genomas foram formados por um bombardeamento maciço com retroelementos e retrosequências". Entre as muitas características adquiridas por transferência horizontal de genes, talvez o exemplo mais dramático seja a sincitina, um mediador importante da morfogênese da placenta dos mamíferos, que foi identificada como a proteína do envelope de um retrovírus(Mi, *et al.,* 2000).

Outra questão bastante curiosa refere-se à regulação da expressão destes genes RAG. O gene responsável pela ativação destas recombinases já estava presente em ciclostomados, o grupo ancestral mais próximo dos organismos que receberam os genes microbianos (Dong, et al., 2004). A não ser que se admita que estes genes estavam lá "prevendo e esperando" a inserção de um gene viral, parece bastante claro que a alça de ativação gênica destas recombinases, também representa um fenômeno exaptativo sem nenhuma direcionalidade.

Esta exaptação de uma integrase viral para uma recombinase em vertebrados parece coincidir com um período importante da evolução do sistema imunológico. O surgimento da chamada imunidade adaptativa é uma etapa evolutiva intrigante porque, em lugar de uma evolução tipicamente lenta e gradual, ela surgiu como um "big bang" (Schluter et al., 1999). Nas palavras de Schluter et al. (1999 apud Bartl et al., 2002):

> "Em conclusão, parece no momento que a imunidade adaptativa desenvolveu-se como uma explosão, ou toda de uma só vez, em um ancestral dos vertebrados mandibulados, com todos os componentes surgindo do nada."

Este seria um caso em que a evolução agiu rapidamente a partir de múltiplos predecessores com funções não-imunes".

Esta emergência súbita, assim como muitos dados da imunologia comparada, parecem demonstrar dois aspectos: o primeiro já citado, de uma condição exaptativa; e o segundo, de que este processo evolutivo encaixa-se com perfeição na previsão do equilíbrio pontuado de Gould.

Para argumentar em favor deste equilíbrio pontuado na gênese do sistema imunológico precisa-se atentar às escalas de tempo em que estes processos ocorreram. Como demonstrado na Figura 2, há aproximadamente 525 milhões de anos surgiram os primeiros Craniata (antigamente Vertebrata). Estes organismos não apresentavam nem linfócitos, nem nenhum outro componente funcional da chamada imunidade adaptativa (Khalturin, et al., 2004). Há aproximadamente 438 milhões de anos houve uma separação de clados, formando os amandibulados (Agnatha) e os mandibulados (Gnatostomatha). Representantes vivos de Agnatha são as lampreias, que são utilizados em estudos de imunologia comparada, já que não apresentam um sistema imunológico (ou imunidade adquirida)[4]. Por outro lado, representantes vivos dos mandibulados são todos os peixes cartilaginosos (tubarões, raias e quimeras), todos os peixes ósseos e demais grupos que evoluíram a partir destes. Como a partir destes organismos mandibulados observa-se a presença de um sistema imunológico completo, admite-se que este sistema tenha surgido em um ponto após a separação entre amandibulados e mandibulados. E ainda, como este sistema está presente tanto em peixes

---

[4] Um sofisticado sistema de geração de regiões variáveis, distinto do encontrado nos mandibulados, foi recentemente caracterizado em células de lampreias ((Flajnik and Du Pasquier , 2004)

cartilaginosos quanto em peixes ósseos, admite-se ainda que tenha surgido antes desta divergência cartilaginosos/ósseos. É neste ponto que reside a curiosidade! Este período entre a formação de mandíbulas e a separação entre peixes ósseos e cartilaginosos é tão curto no registro fóssil, que ainda hoje há dúvidas sobre quem surgiu primeiro, se os peixes ósseos ou cartilaginosos (ambos aparecem juntos no registro fóssil) (Pough 1999). Ou seja, à exemplo do surgimento da notocorda, das vértebras e mandíbulas, o surgimento do sistema imunológico também foi extremamente rápido no tempo geológico (pontual) e sem apresentar formas intermediárias. Além disso, uma vez tendo surgido, este sistema permaneceu desde então (aproximadamente 438 milhões de anos) praticamente inalterado, o que corresponde ao período de estase na Teoria do Equilíbrio Pontuado.

A proposta deste texto não é estudar com profundidade os aspectos da evolução do sistema linfocitário, mas sim apontar que esta evolução não parece ter seguido uma lógica neo-Darwinista, e portanto inviabilizar a idéia de um sistema otimizado com função de defesa do organismo. A proposta de um surgimento exaptativo (não-direcionado) do processo de diversificação de imunoglobulinas e TCRs implica em ver a defesa imunológica como uma exaptação, e corrobora também a teoria do equilíbrio pontuado. Rinkevich (2004), embora defenda argumentos diferentes, também refuta a idéia de uma filogênese voltada para a detecção de patógenos.

Há outros exemplos de componentes do sistema imune que participavam previamente de outros processos fisiológicos, e que podem ser exemplos de exaptação. Neste contexto, as glicoproteínas do MHC parecem ter originado também de contextos não imunológicos, a partir de chaperonas (Bartl, et al., 2002); as desoxinucleotidil transferases terminais (TdT), que também participam do processo diversificação dos receptores imunológicos, apresentam alta similaridade com outras enzimas de reparo de DNA (Bartl, et al., 2002).

A via Toll/NF-kB está envolvida no desenvolvimento embrionário de diversas espécies (e.g. Drosophila e Xenopus), portanto, obviamente com ligantes endógenos (Han, et al., 2000). Este é um exemplo importante, pois inicialmente acreditava-se que estes eram receptores evoluídos para reconhecerem padrões moleculares associados a patógenos (por exemplo, Sandor and Buc, 2005). Observações posteriores identificaram ligantes endógenos para estes receptores, como proteínas de choque-térmico (heat-shock proteins HSPs).

Metchnikoff novamente

Pode parecer estranho abordar a atividade imunológica em um contexto não defensivos, mas esta idéia não é nova e pois estava presente nos anos iniciais do surgimento da Imunologia. Metchnikoff conhecido pela Teoria Celular da Imunidade, na verdade, preocupava-se com questões mais amplas que a defesa imunológica. Envolvido em um contexto filogenético, Metchnikoff acreditava em uma ligação entre a atividade imunológica com outras atividades biológicas assim como a nutrição e o desenvolvimento. Ao estudar a atividade imunológica neste contexto, Metchnikoff descrevera a fagocitose como uma "adaptação" de mecanismos de nutrição pré-existentes em organismos mais ancestrais. Talvez uma releitura de parte destas idéias possa passar pelo conceito de exaptação (Tauber, 2003). A fagocitose de células apoptóticas é atualmente reconhecida como um mecanismo indispensável do desenvolvimento embrionário (Franc et al., 1996). Esses exemplos podem ser interpretados como instâncias de exaptação.

Em resumo, há uma série de eventos exaptativos na evolução da atividade imunológica que não apoiam a idéia de um sistema adaptado para funções defensivas (imunidade adaptativa) do organismo. Portanto, é enganador apresentar a defesa anti-infecciosa atual como a razão principal que deu origem ao sistema imune na evolução. Porém, no cenário usual atualmente, surge a pergunta: Se a função do sistema imune não é a defesa do corpo, qual é ela?

Nas seções seguintes, argumentaremos que a busca de funções não serve para entender a organização de um sistema. A importância do termo exaptação está em abrir novas avenidas de questionamento científico. Um sistema exaptado não tem funções: há efeitos biologicamente úteis que derivam de sua operação. No programa adaptacionista, que se preocupa principalmente com funções, compreender a <u>organização</u> e a <u>estrutura</u> de um sistema se torna um problema secundário. Afirmamos que a rede linfocitária que desempenha a atividade imunológica pode ser vista como um tímpano (spandrel) - "um espaço com forma e números que surgem em conseqüência de eventos anteriores". A defesa imunológica é como um mosaico sofisticado desenhado por imunologistas sobre esses tímpanos. Embora esse tímpanos possa ser harmoniosos e belos, eles não explicam a organização, a arquitetura.

A deriva filogênica natural.

Embora sejam importantes em si mesmas e mostrem que um modo alternativo de ver é necessário, as críticas à Teoria Sintética da Evolução não propõe, qual seria essa proposta. Isto é o que a noção de deriva filogênica natural oferece concretamente.

O neurobiólogo/filósofo chileno Humberto Maturana desenvolveu nas últimas três décadas todo um conjunto de proposições relevantes à origem e natureza dos sistemas vivos, a cognição e linguagem humanas (Maturana and Varela, 1980; 1987; Maturana and Poerksen, 2004; Maturana 2002; 2005), que inclui uma teoria completa na qual o surgimento e a conservação de linhagens de seres vivos é denominada deriva filogênica natural (Maturana and Mpodozis, 1992; 2000). Essa teoria se apóia em postulados prévios de Maturana e Varela (1980; 1987) afirmando que os seres vivos precisam manter duas "condições de existência" em todos os momento de seu viver:

a) A conservação da organização autopoiética

Um sistema pertence a uma certa classe de sistemas enquanto mantiver invariante sua organização : um conjunto particular de relações entre seus componentes a particular. Em sua dinâmica de transformações estruturais, os sistemas vivos mantêm invariante uma organização denominada autopoiética (auto-criadora, auto-mantenedora) (Maturana and Varela, 1980; 1987, Maturana 2002). A manutenção da organização autopoiética não é intencional e o termo auto-organização é inadequado, mas, em termos bem simples, quando essa organização é perdida, o sistema vivo se desintegra.

b) A conservação da congruência com o meio

Um sistema vivo mantém sua congruência com o meio no qual opera através de uma seqüência incessante de mudanças estruturais com conservação de suas organização autopoiética. Essa é uma seqüência de transformações epigenéticas que se constrói momento a momento (epi + genesis), e não uma história determinada pelas condições iniciais ou por um programa. Nesse processo sempre em andamento, o organismo (o todo) vive uma dinâmica permanente de transformações, na qual cada mudança é permitida por sua estrutura no estado anterior. O termo proposto por Maturana e co-autores para s\descrever essa classe de histórias é deriva natural.

A deriva natural dos seres vivos

A palavra deriva representa "uma seqüência de processos espontâneos de mudanças estruturais que segue uma dinâmica contingente de interações organismo/meio na qual o

organismo realiza sua existência" (Cecchi et al, 2004). Em suas palestras, Mpodozis compara a deriva natural dos sistemas vivos com os movimentos de um barco à deriva. Este barco chega em um dado lugar, que pode ser um de diversos lugares, mas o importante é que não se pode dizer que ele está se aproximando do lugar a que chega; esse lugar ao qual o barco chega, não opera como uma referência a determinar o curso das mudanças. Um barco com timão e timoneiro sim, opera tendo o local da chegada como referência. Mas um barco à deriva, se move simplesmente seguindo uma história que é uma deriva. O lugar que um barco a deriva chega não existe antes deste encontro. Aplicadas aos seres vivos e seu viver, estas idéias refutam qualquer forma de interações instrutivas, seja de um componente interno (o DNA), seja de pressões externas (pressões seletivas).

Estamos agora em condições de considerar como esse modo de ver se aplica à descrição da atividade imunológica.

A Teoria de Seleção Clonal da imunidade e o Neo-Darwinismo

A Imunologia é um exemplo notável de como um segmento importante do conhecimento biomédico pode ser dominado pelo programa adaptacionista, e como isso pode limitar a compreensão de muitos fenômenos e da própria natureza da atividade imunológica.

Silverstein (2003) escreveu um comentário orgulhoso sobre como as idéias darwinistas foram importantes para a construção da Imunologia atual. As primeiras teorias sobre a formação dos anticorpos se aproximavam da química e com isso se afastavam do darwinismo (Silverstein, 2003). Mas a teoria vigente da Imunologia atual só pôde ser proposta quando ela se reaproximou da Biologia e do darwinismo, por volta da década de 50. Esta Teoria da Seleção Clonal foi proposta por Burnet (1957; 1959), que enfatizava se tratar de uma teoria darwinista e evolutiva, que assume como premissas básicas:

(1) a capacidade de produzir anticorpos é especificada no genoma e o repertório é expandido por mutações somáticas;

(2) as células produtoras de anticorpos expressam clonalmente tais receptores específicos;

(3) as células são selecionadas especificamente pelo antígeno e então se reproduzem clonalmente e produzem anticorpos específicos para o estímulo que o selecionou;

(4) estas células não reagem com o próprio corpo, pois clones de células com receptores que reconhecem auto-componentes (o próprio, o self) são destruídas durante o desenvolvimento (clones proibidos).

Com estes postulados, Burnet consolidou a idéia de que a Imunologia era a Ciência da diferenciação próprio/estranho (self/nonself) (Klein, 1996).

Ainda que esta teoria tenha explicado e previsto com sucesso muitos fenômenos, tais como a existência de um processo somático de diversificação de receptores celulares expressos clonalmente. No entanto, com sua dupla admissão de que:

(a) os linfócitos expressam seus receptores clonalmente; e,

(b) não podem reconhecer e interagir entre si ou com o próprio corpo,

esta teoria proíbe toda e qualquer abordagem verdadeiramente sistêmica à Imunologia. ou seja, não permite que o sistema imune seja descrito como um todo interconectado. A Teoria de Seleção Clonal, na realidade, é uma teoria sobre clones linfocitários e não pode incorporar noções verdadeiramente sistêmicas.

Ao estabelecer que linfócitos isolados são os elementos fundamentais da atividade imunológica, a Teoria de Seleção Clonal oferece um belo exemplo do programa adaptacionista, e a imunidade típica dos vertebrados mandibulados é denominada imunidade "adaptativa". A seleção clonal é comparada à seleção natural, isto é, linfócitos representam organismos e a atividade imunológica é vista como um exemplo dos mecanismos evolutivos durante a vida de um único organismo.

Além disso, desde que linfócitos não interagem uns com os outros nem com o organismo (tolerância natural); a teoria cria o conceito de auto-imunidade patogênica, e muitos modelos experimentais de doenças auto-imunes foram criados em animais. Com isso, a interação de linfócitos com outros linfócitos e com auto-componentes passa a ser considerada como um erro de eliminação ou falha na supressão de linfócitos. Atualmente, grande parte da Imunologia adota este tipo de abordagem. Como o problema da auto-imunidade é visto como uma ativação voltada contra o próprio corpo, o tratamento clínico óbvio é feito com imuno-supressores, radiações ou drogas que destroem linfócitos. Este tipo de abordagem terapêutica tem pouca eficácia clínica e a autoimunidade continua sendo prevalente e mal compreendida.

Jerne: redes idiotípicas como sistemas

Em 1974, Jerne lançou sua teoria sobre o entrelaçamento de linfócitos em uma rede dinâmica cuja operação constituiria a atividade imunológica. Jerne se baseou na demonstração (Oudin/ Kunkel) de que regiões variáveis de imunoglobulinas também são antigênicas e induzem a produção de anti-anticorpos. Propôs, então, que as regiões variáveis

de imunoglobulinas (e mais tarde, de TCRs), além de um sítio de combinação (paratopo) com detalhes de antígenos (epitopos), contêm também um perfil antigênico, denominado idiotípico, que seria assim como epitopos associados aos paratopos. Estas estruturas idiotípicas induziriam a produção de anticorpos anti-idiotípicos. Jerne propôs ainda que cada região variável expressa diversas dessas estruturas (idiotopos), as quais podem induzir a formação de uma certa variedade de anticorpos anti-idiotípicos (Jerne, 1984). Os linfócitos estariam, portanto, conectados através de uma rede (idiotípica). Com esta teoria, Jerne introduziu as primeiras noções sistêmicas da Imunologia.

Em um primeiro momento, a formação de anti-anticorpos não parece simplificar as coisas e, na realidade, pode tornar o quadro muito mais complexo. Talvez por isso, ela não foi bem aceita pela maioria dos imunologistas. A Teoria propunha, em primeiro lugar, a organização de um sistema, uma rede complexa e interconectada, algo pouco familiar aos imunologistas. E se linfócitos reagem uns com os outros, então o organismo não responde mais apenas a materiais estranhos e isso contradiz a Teoria de Seleção Clonal. Apesar de Jerne ter sido laureado com o Nobel dez anos após sua proposta, poucos imunologistas consideraram com seriedade as reais implicações desta teoria; por exemplo, foram negligenciados os conceitos de Eigen-behavior e de imagens internas, que são importantes na Teoria. Os anti-anticorpos foram incorporados à teoria principal, mas apenas como detalhes "reguladores" da intensidade de respostas imunes específicas. A parcela realmente importante da Teoria foi minimizada e hoje está praticamente esquecida.

O fechamento operacional do sistema imune

Poucos anos após a proposta de Jerne (1974), Vaz e Varela (1978), deram continuidade ao pensamento sistêmico na Imunologia. De acordo com idéias de maturana (para uma revisão, ver Maturana, 2002) , propuseram que a conectividade entre linfócitos - a conectividade idiotípica e também outras formas de conectividade - "se fecha sobre si mesmo" , significando que sua organização não é instruída (especificada, ditada) por interações com o meio. No lugar da expansão clonal de linfócitos selecionados pelo antígeno, propõem células interconectadas e que a atividade imunológica surge destas relações internas.

Essas noções derivam da definição de sistema com base nas idéias de Maturana (2002):

> "Um sistema é qualquer coleção de elementos que através de interações preferenciais (entre si mesmos) criam um limite operacional que os separa de outros elementos, com os quais eles também podem interagir e que, então, configuram o meio no qual a coleção de elementos (o sistema) opera em sua totalidade. Portanto, um sistema existe em sua totalidade em um meio o qual interage, e existe também em um outro domínio: o domínio estrutural, um espaço gerado pela interação entre seus componentes. Em sua totalidade, o sistema não existe sozinho: ele existe em um meio através de interações que desencadeiam mudanças estruturais em si. O sistema preserva a sua condição de um tipo particular de sistema enquanto a organização que o define e o constitui como um sistema daquele tipo é preservada."

Partindo deste conceito, Vaz et.al. (2003) afirmam que "um sistema imunológico não pode simplesmente ser definido pela presença de linfócitos, mas também na maneira pelas quais mudanças ocorrem nas relações entre estes linfócitos e destes com o seu meio, enquanto o sistema opera". Ao apontar isto, algumas perguntas tornam-se relevantes, como:

Qual o meio em que o sistema opera? e,

Quais são os limites entre o sistema e o meio?

Vaz e co-autores propõem que o meio em que o sistema imunológico opera é o organismo do qual ele é um componente. Sendo assim, seus componentes interagem com o organismo, e jamais interagem com elementos do meio externo, que permanece como um meta-meio para o sistema imunológico. Portanto, para o sistema imunológico não existe o estranho, não existe dentro nem fora – a discriminação entre próprio e estranho torna-se um pseudo-problema quando o sistema imunológico é tratado dessa forma (Vaz, et al., 2003).

A atividade do sistema imune, portanto, se realiza em "fechamento operacional", uma proposta importante de Maturana e Varela (1980; 1987) para os sistemas vivos e, na realidade, para todos os sistemas. De acordo com essa noção, os sistemas vivos são abertos para trocas de matéria e energia com o meio em que operam, mas são fechados em sua organização, i.e., as relações entre componentes que os definem como um sistema de uma certa classe, são mantidas invariantes (Maturana, 2002). Vaz e Varela aplicaram essa noção à rede linfocitária e propuseram que, em vez de respostas imunes a antígenos externos: "há um conjunto de relações invariantes voltadas circularmente sobre si mesmas. Em seu

fechamento, a rede imunológica estabelece referenciais em relações aos quais sua dinâmica é orientada" (Vaz and Varela, 1978). Isso representa uma mudança maior na maneira de ver a atividade imunológica, não mais descrita como uma reatividade a materiais estranhos que ignora o organismo, mas sim a atividade de um sistema voltado sobre si mesmo, que é estruturalmente conectado a si próprio e ao organismo do qual é um componente. O meio no qual o sistema imune opera (organismo) continuamente "perturba" a rede linfocitária, a qual recursivamente "perturba" o organismo. O resultado dessas perturbações recursivas, ou mudanças de estados globais do sistema, não é instruído pelo organismo, mas sim ocorre de acordo com a estrutura do sistema a cada momento. Nessa maneira de ver, a re-atividade imunológica, aquilo que o imunologista descreve e quantifica quando trabalha com antígenos, é o resultado de perturbações na conectividade interna dos linfócitos, não a seleção e ativação de clones linfocitários voltados para o exterior.

Aceitar que isso se passa, implica em aceitar que existe uma atividade imunológica sadia e fisiológica que, embora influenciada pela presença de antígenos, pode se dar na ausência total de antígenos. Esse é um ponto intrigante e importante que tem sido estudado experimentalmente: camundongos isentos de germes (germfree) e mesmo "isentos de antígenos", embora demonstrem uma síntese deficiente de IgG e IgA, mantêm um nível normal de IgM (Hashimoto et al., 1978; Bos et al., 1986). Ainda mais, as IgM de animais criados em condições "isentas de antígenos" desenvolvem o mesmo perfil de reatividade com misturas complexas de antígeno, que animais criados em condições SPF (Specific Pathogen Free), que são próximas às convencionais. Isso sugere que a síntese de IgM prossegue de forma essencialmente independente da presença de antígenos externos (Haury, et al. 1997).

A autoimunidade patogênica, a maior preocupação da imunologia moderna, precisa também ser reavaliada. Tauber (2000) discutiu como e quando a auto-reatividade imunológica passou a ser encarada como patogênica. Ao considerar a abundância de evidências atuais sobre uma auto-reatividade fisiológica, Parnes (2004) também nos alerta de que um novo entendimento sobre as doenças autoimunes e seu tratamento é mandatório. Se a auto-imunidade patogênica não resulta de uma auto-reatividade espúria, desviada de seus alvos externos, seu tratamento por imuno-supressão - a destruição indiscriminada de linfócitos - parece inadequado. Se a situação fisiológica e normal representa uma dinâmica linfocitária voltada sobre si mesma, a busca do tratamento mais adequado deveria contemplar a restauração dessa dinâmica, não a destruição de linfócitos.

Nessa direção, vale mencionar uma abordagem terapêutica importante que é consistente com essa visão do sistema imune orientada para dentro: a injeção endovenosa de altas doses de IgG (IVIg). Usada inicialmente como uma terapia de reposição em pacientes imunodeficientes, a IVIg, curiosamente se mostrou útil no tratamento de uma variedade de condições autoimunes e inflamatórias (Lemieux, et al., 2005). O mecanismo pelo qual esse tratamento melhora os sintomas dessas doenças não está claro, mas ele pode representar uma forma de restaurar as conexões linfocitárias e a dinâmica adequada da rede linfocitária.

Coda

Em resumo, argumentamos que a defesa imunológica é um resultado possível do que se passa, não um mecanismo a dirigir o que se passa - um comentário que nada diz sobre os sistemas envolvidos em sua geração. Aceitar que isso é assim abre novas questões e abordagens na Imunologia, mas exige uma ruptura com o nó conceitual que a une ao neo-Darwinismo (funcionalismo). Dados da imunologia comparada apoiam a idéia de uma deriva filogênica (exaptada) da rede linfocitária (não instruída por patógenos), em vez de uma evolução adaptada para funções de defesa. Ainda mais, encarar a rede imunológica como um tímpano (spandrel) nos permite focar a atenção além: na estrutura e organização do sistema imune e em como ela se insere no organismo. Por um lado, essa nova aplicação das metáforas de Gould se encaixa na Imunologia da mesma forma que afetou a Biologia evolutiva: elas pedem a rejeição do programa adaptacionista (funcionalismo) do neo-Darwinismo. No entanto, essas metáforas não configuram uma teoria alternativa. Por outro lado, o conceito da Deriva Filogênica Natural de Maturana e Mpodozis faz parte de toda uma nova teoria, baseada na conservação da organização e da congruência operacional do sistema vivo com seu meio em uma dinâmica historica/sistêmica, na qual funções são vistas como comentários emitidos por um observador humano. Essa mudança radical permite novas abordagens à Imunologia que incluem a descrição de uma rede linfocitária verdadeiramente sistêmica e pode levar a um novo entendimento de sua organização e operação, que eventualmente leve a benefícios clínicos.

Bibliografia

Bartl, S., Baish, M., Weissman, I. S., Diaz, M. (2003) Did the Molecules of Adaptive Immunity Evolve from the Innate Immune System? Integr. Comp. Biol. 43: 338-346.

Bos, N. A., R. Benner, B. S. Wostmann, and J. R. Pleasants (1986) 'Background' Ig-secreting cells in pregnant germfree mice fed a chemically defined ultrafiltered diet. J. Reprod. Immunol. 9 (3): 237-246.

Brosius, J. (1999) Genomes were forged by massive bombardments with retroelements and retrosequences. Genetica 107: 209-238.

Burnet, F. M. (1957) A modification of Jerne's Theory of antibody production using the concept of clonal selection. Austral. J. Sci. 20 (3):67-69.

Burnet MF (1959). The clonal selection theory of immunity.
Nashville-London, The Vanderbilt and Cambridge University Presses.

Cecchi, M. C., Gerrero-Bosagna, C. and Mpodozis, J. (2001) El delito de Aristóteles. Rev. Chil. Hist. Nat. 74: 507-514.

Dong, M. ,Fu, Y., Yu, C., Su, J., Huang, S., Wu, X., Wei, J., Yuan, S., Shen , Y. and Xu, A. (2005) Identification and characterisation of a homolog of an activation gene for the recombination activating gene 1 (RAG 1) in amphioxus. Fish & Shellfish Immunol. 19 (2): 165-174

El-Hani, C. N. and Emmeche, C. (2000) On Some Theoretical Grounds for an Organism-centered Biology: Property Emergence, Supervenience, and Downward Causation. Theory Biosci. 119: 234±275

Eldredge, N. and Gould, S. (1972). Punctuated Equilibria: An Alternative to Phyletic Gradualism, chapter 5, pages 82-115. Freeman, Cooper and Co.

Flajnik, M. F. and L. Du Pasquier (2004). "Evolution of innate and adaptive immunity: can we draw a line?" Trends in Immunology 25 (12): 640-644.

Franc, N.C, K. White, R. Alan, and B. Ezekowitz (1999) Phagocytosis and development: back to the future. Current Opinion in Immunology 11: 47-52

Gould, S. J. and Lewontin (1979) The Spandrels of San Marco and the Panglossian Paradigm: A critique of the adaptationist programme. Proc. Royal Soc. Lond. 205B (1161): 581-598.

Gould, S. J. and Vrba, E. S. (1982) Exaptation, a missing term in the science of form. Paleobiology 8 (1): 4-15

Gould, S. J. and Eldredge, N. (1993) Punctuated equilibrium comes of age. Nature. 18: 366(6452):223-227.

Gould, S. J. (1997) The exaptive excellence of Spandrels as a term and prototype. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 94: 10750-10755

Han, J. H., Lee, S. H., Tan, H. Q., LeMosy, E. K. and Hashimoto, C. (2000) Gastrulation Defective is a serine protease involved in activating the receptor Toll to polarize the Drosophila embryo. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 97 (16): 9093-9097.

Hashimoto, K., H. Handa, K. Umehara, and S. Sasaki (1978) Germfree mice reared on an "antigen-free" diet. Lab Anim Sci 28 (1): 38-45.

Haury, M., A. Sundblad, A. Grandien, C. Barreau, A. Coutinho, and A. Nobrega (1997) The repertoire of serum IgM in normal mice is largely independent of external antigenic contact. Eur J Immunol 27 (6): 1557-1563.

Jerne, N. K. (1974) Towards a network theory of the immune system. Ann. Inst. Pasteur/ Immunol. 125C: 373-389.

Jerne, N. K. (1993) The Nobel Prize for Physiology or Medicine, 1984. The generative grammar of the immune system. Scand J Immunol 38 (1): 1-9.

Kauffman, S. A. (1995) What is life? was Schrodinger right? in Murphy, M. P. and O'Neill, L. A. J. (editors). What is Life? The Next Fifty Years: Speculations on the Future of Biology. Cambridge University Press.

Keller, E. F. (2000). The Century of the Gene. Cambridge, Mass, Harvard Univ Press.

Khalturin, K., Panzer, Z., Cooper, M. D. and Bosh, T. C. (2004). Recognition strategies in the innate immune system of ancestral chordates. Mol. Immunol. 41 (11):1077-87

Kimura, M. and Ohta, T. (1974) On some principles governing molecular evolution. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 71 (7): 2848-2852.

Klein, J. (1982) Immunology: The Science of Self-Not-Self Discrimination
New York, John Wiley and Sons

Kollar, E. J., Fisher, E.C. (1980). Tooth induction in chick epithelium: expression of quiescent genes for enamel synthesis. Science; 207 (4434):993-995,
Lemieux, R., Bazin,R. and Neron, S. (2005). Therapeutic intravenous immunoglobulins. Mol Immunol. 42 (7): 839-48.

Marchalonis, J. J., Whitfield, G. K. and Schluter, F. S. (2003) Rapid Evolutionary Emergence of the Combinatorial Recognition Repertoire. Integr. Comp. Biol. 43: 347-359.

Maturana, H. and Varela, F. (1980) Autopoiesis and cognition. The realization of the living. Dordrecht, Reidel,

Maturana, H.R. and F.J. Varela (1987) The Tree of Knowledge.Biological Basis of Human Understanding. Boston.: New Science Library

Maturana, H.R. and J. Mpodozis (1992) Origen de las espécies por medio de la deriva natural. Ó, La diversificación de los linajes través de la conservación y cambio de los fenotipos ontogénicos. Santiago: Museo Natural de Historia Natural

Maturana, H. R. and J. Mpodozis (2000) The origin of species by means of natural drift. Revista Chilena de Historia Natural 73: 261-310 (2000) 73: 261-310.

Maturana, H. R. (2002) Autopoiesis, structural coupling and cognition: a history of these and other notions in the biology of cognition. Cybernetics & Human Knowing 9 (3-4): 5-34.

Maturana, H. R. (2004).The origin and conservation of self-consciousness. Reflections on four questions by Heinz von Foerster. Kybernetes; 34(1/2): 54-88.

Maturana, H. and B. Poerksen (2004) From Being to Doing: The Origins of Biology of Cognition. Heidelberg: Carl-Auer

Mi S, Lee X, Li X, Veldman GM, Finnerty H, Racie L, LaVallie E, Tang XY, Edouard P, Howes S, Keith JC Jr, McCoy JM. (2000) Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. Nature; 403(6771):785-9

O'Grady, R. T. (1984) Evolutionary theory and teleology. J. Theor. Biol. 107 (4): 563-578

Parnes, O. (2004) From interception to incorporation: degeneracy and promiscuous recognition as precursors of a paradigm shift in immunology. Mol. Immunol. 40: 985-991.

Rinkevich, B. (2004) Primitive immune systems: Are your ways my ways? Immunol. Rev. 198: 25-35.

Sandor, F., Buc,M. (2005). Toll-like receptors. I. structure, function and their ligands. Folia. Biol. (Praha);51(5):148-57.

Schatz, D. G. (2004) Antigen receptor and the evolution of a recombinase. Sem. Immunol. 16: 245-256.

Schluter, S. F., R. M. Bernstein, H. Bernstein, and J. J. Marchalonis (1999) 'Big Bang' emergence of the combinatorial immune system. Dev Comp Immunol 23 (2): 107-111

Silverstein, A. M. (2003) Darwinism and Immunology: from Metchinikoff to Burnet. Nature Immunol. 4 (1): 3-6.

Tauber, A. I. (2000) Moving beyond the immune self. Sem. Immunol. 12: 241-248.

Vaz, N.M. and Varela, F. J.(1978) Self and Nonsense: an organism centered approach to immunology. Med. Hyp. 4: 231-267.

Vaz, N. M., Verdolin, B. A., Silva-Neto, A. F., Menezes, J. S. and Carvalho, C. (2003) The conservative physiology of the immune system. Braz. J. Med. Biol. Res. 36 (1): 13-22.